

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ  
УКРАЇНСЬКИЙ ЦЕНТР НАУКОВОЇ МЕДИЧНОЇ  
ІНФОРМАЦІЇ ТА ПАТЕНТНО-ЛІЦЕНЗІЙНОЇ РОБОТИ**

**МЕТОДИКА ГЕНОТИПУВАННЯ  
ЗБУДНИКА ТУБЕРКУЛЬОЗУ ЛЮДИНИ  
(НАЛЕЖНОСТІ *M. TUBERCULOSIS*  
ДО РОДИНИ BEIJING)**

**Методичні рекомендації**

**Київ — 2010**

Міністерство охорони здоров'я України  
Національна академія медичних наук України  
Український центр наукової медичної інформації  
та патентно-ліцензійної роботи

"УЗГОДЖЕНО"

Заст. начальника лікувально-  
організаційного управління  
АНН України



УЗГОДЖЕНО

Директор Департаменту  
розвитку медичної допомоги  
МОЗ України



МЕТОДИКА ГЕНОТИПУВАННЯ ЗБУДНИКА ТУБЕРКУЛЬОЗУ ЛЮДИНИ  
(НАЛЕЖНОСТІ *M. TUBERCULOSIS* ДО РОДИНИ BEIJING)  
(методичні рекомендації)

Київ – 2010

**Установи розробники –**

Одеський національний медичний університет МОЗ України,  
ДУ „Національний інститут фтизіатрії і пульмонології імені Ф.Г.Яновського  
АМН України”

**Укладачі:**

Д.мед.н., професор, чл.-кор. АМН України Кресюн В.Й.

Д.мед.н., професор, акад. АМН України Фещенко Ю. І.

Д.мед.н., професор, з.д.н.т. України Бажора Ю. І.

Д.мед.н., професор, з.д.н.т. України Асмолов О. К.

Чеснокова М. М.

К.мед.н. Бабуріна О. А.

Контактний телефон (048)728-54-74

**Рецензент:**

Іваниця В.О. - д.б.н., проф., зав. кафедри мікробіології та вірусології Одеського національного університету

Черенько С.О - д.мед.н., проф., зав. відділенням фтизіатрії ДУ “Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім.Ф.Г.Яновського”

Заступник голови проблемної комісії « Пульмонологія та фтизіатрія » МОЗ  
та АМН України д.мед.н., проф. Мельник В.М.



## Перелік умовних скорочень

ВДТБ	Вперше діагностований туберкульоз
ДІ	Довірчий інтервал
ДНК	Дезоксирибонуклеїнова кислота
МБТ	Мікобактерія туберкульозу
НК	Негативний контроль
ПДРФ	Поліморфізм довжин рестрикційних фрагментів
ПЛР	Полімеразна ланцюгова реакція
п. н.	Пар нуклеотидів
СДГ	Соціально-демографічна група
ТВЕ буфер	Трис-боратний буфер
ХТБ	Хронічний туберкульоз

## ЗМІСТ

Вступ.....	5
1. Особливості вперше діагностованого легеневого туберкульозу у хворих, інфікованих <i>M. tuberculosis</i> родини Beijing .....	8
2. Методика виділення ДНК збудника туберкульозу	
2.1 Устаткування і матеріали необхідні для виділення ДНК збудника туберкульозу .....	12
2.2 Виділення ДНК збудника туберкульозу.....	12
3. Методика проведення полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР)	
3.1 Устаткування і матеріали необхідні для проведення ПЛР.....	13
3.2 Виконання ПЛР.....	14
Висновок.....	17
Перелік рекомендованої літератури .....	18



## ВСТУП

Однією з родин *M.tuberculosis* механізми високої вірулентності і трансмісивності якої наразі активно вивчаються, є родина Beijing. Переважання штамів Beijing в різних географічних регіонах та їх здатність до домінування і клонального розповсюдження дає можливість припустити, що ця філогенетична лінія має генетичні переваги над іншими лініями *M.tuberculosis* у спроможності інфікувати людину та викликати захворювання. В лабораторних дослідженнях при інфікуванні збудниками родини Beijing показана менш ефективна імунна відповідь із зниженням продукції IL-2, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$  та підвищенням експресії IL-10, що обумовлює більш швидке розмноження мікобактерії та пригнічення апоптозу інфікованих макрофагів.

Збудникам родини Beijing властива також підвищена експресія генів, що беруть участь в забезпеченні анаеробного дихання і ліпідного метаболізму, та здатність накопичувати тріацилгліцериди (TAG), що обумовлює кращу здатність мікобактерій до виживання. Підвищена вірулентність може бути пов'язана з нездатністю штамів родини Beijing стимулювати дозрівання дендритних клітин, які мають велике значення в формуванні імунної відповіді при туберкульозі як антигенпрезентуючі клітини. МБТ родини Beijing характеризуються наявністю медикаментозно-резистентних штамів, пристосованість яких зберігається після набуття медикаментозної резистентності, а швидкість росту в культурі навіть більша, ніж у чутливих.

Патогенетичні відмінності обумовлюють асоціацію інфікування штамми родини Beijing з невдалим лікуванням та рецидивами туберкульозу, втрічі вищим ризиком розвитку позалегенового туберкульозу, лихоманкою на початку лікування. У випадку наявності у хворого МБТ генотипу Beijing виникає висока ймовірність розвитку туберкульозу в контактних осіб.

Сучасні молекулярні дослідження показали, що родина Beijing є самостійною філогенетичною лінією. W-Beijing штами характеризуються певними генетичними особливостями:

- характерний паттерн поліморфізму довжин рестрикційних фрагментів (ПДРФ) з 15 – 26 копіями інсерційної послідовності IS6110;

- наявністю двох мутацій – одна в 463 кодоні (CTG, Лей) гену *katG*, інша у 95 кодоні (ACC, Тре) гену *gyrA*, що вказує на належність збудника до генетичної групи 1 [131, 132]; W-штами також характеризуються динуклеотидною заміною (AGC → ACA; Сер → Тре) в 315 кодоні гену *katG*. Мутація 315 кодону цього гену є частою причиною стійкості до ізоніазиду, але вищезазначений тип мутації є унікальною рисою штаму W;

- S00034 паттерн споліготипування, який характеризується відсутністю спейсерів 1 – 34 та наявністю гібридизації із спейсерами 35 – 43 в регіоні прямих повторів мікобактеріальної хромосоми;

- інсерція IS6110 (інсерція A1) в точці початку реплікації (*oriC*) між генами *dnaA* та *dnaN*;

- одна або дві інсерції IS6110 у хромосомному регіоні NTF. Штами Beijing характеризуються однією інсерцією, W- мультирезистентні штами мають дві протилежно орієнтовані вставки;

- специфічний паттерн однонуклеотидного поліморфізму (sSNP).

Генотипування *M.tuberculosis* дає можливість виявити джерело інфікування та безпосередні ланцюги розповсюдження інфекції, визначити природу рецидиву (реактивація або реінфекція). Вивчення факторів ризику трансмісії штамів з підвищеною патогенністю та медикаментозно резистентних (зокрема Beijing) дозволяє виділити групи ризику та спланувати адекватні профілактичні заходи.

Проблема визначення належності збудника *M.tuberculosis* до генетичної родини Beijing є важливою, оскільки, як показали проведені в Одеському національному медичному університеті дослідження,

- інфікування штамми родини Beijing статистично достовірно асоційовано із мультирезистентністю, довшим збереженням бактеріовиділення та підвищеною летальністю. Широке розповсюдження хіміорезистентного туберкульозу, зокрема туберкульозу з множинною лікарською стійкістю є



однією серед причин, що перешкоджають зниженню захворюваності на туберкульоз в Україні. Лікування таких хворих потребує дорогих лікарських засобів, створення спеціалізованих відділень, організації соціальної допомоги, впровадження протиепідемічних засобів.

– частота виявлення штамів родини Beijing в Україні, у тому числі в Одеській області, досягає 40 %.

„Золотим стандартом” у молекулярній епідеміології туберкульозу вважається метод поліморфізму довжин рестрикційних фрагментів (ПДРФ) із зондом IS6110, який характеризується дуже високою роздільною здатністю. Але він потребує великої кількості очищеної дезоксирибонуклеїнової кислоти (ДНК) та є технологічно і економічно вимогливим, що значно обмежує можливості його використання у клінічних дослідженнях. Методи генотипування, що базуються на використанні ПЛР є технічно набагато простішими, не потребують великої кількості ДНК (можливе безпосереднє дослідження отриманого від хворого матеріалу), проте методи споліготипування та VNTR-типуювання є досить складними та трудовісними для використання в якості рутинних лабораторних досліджень.

Втой же час, визначення належності збудника *M.tuberculosis* до генетичної родини Beijing за наявністю інсерції IS6110 у міжгенній *dnaA-dnaN* ділянці є технічно набагато простішим, адаптовано нами до умов клінічної молекулярно-генетичної лабораторії, та дозволяє здешевити, спростити та стандартизувати умови перебігу реакції. Можливість отримання результатів протягом доби після виділення ДНК дозволяє своєчасно визначити групу ризику за тяжкістю туберкульозного процесу та оптимізувати лікування.

Методичні рекомендації видаються вперше, призначені для лікарів-фтизіатрів, лаборантів-генетиків.



# 1. ОСОБЛИВОСТІ ВПЕРШЕ ДІАГНОСТОВАНОГО ТУБЕРКУЛЬОЗУ ЛЕГЕНЬ У ХВОРИХ, ІНФІКОВАНИХ *M. TUBERCULOSIS* РОДИНИ BEIJING

З метою аналізу впливу генотипу збудника на перебіг та результат туберкульозного процесу були проаналізовані історії хвороб та досліджені культури *M.tuberculosis* від 110 пацієнтів на легеневий туберкульоз без тяжких супутніх захворювань, які перебували на стаціонарному лікуванні в Одеській клінічній протитуберкульозній лікарні. Належність збудника до родини Beijing було виявлено в 31 зразку (30, 09%).

Частота виявлення збудників *M.tuberculosis* родини Beijing в різних соціально демографічних групах представлена в таблиці 1.

В Одеському регіоні достовірними факторами ризику для інфікування штамми генотипу Beijing виявились проживання в місті Одеса та вживання наркотиків. Серед мешканців міста інфікування штамми цієї генетичної родини виявилось 62,5% випадків у порівнянні з 27,4% серед мешканців Одеської області ( $\chi^2 = 4,15$   $p = 0,042$ ). Місто Одеса є крупним портом, промисловим та навчальним центром, де активність іміграції населення останні роки зростає, у тому разі з Китаю та інших країн Південно-східної Азії, в яких штамми *M.tuberculosis* родини Beijing є домінуючими. Це пояснює відносно високу частоту штаму Beijing в Одеському регіоні та створює умови для його подальшого розповсюдження. Серед осіб, що вживають наркотики інфікування штамми Beijing також зустрічалось майже вдвічі частіше ( $\chi^2 = 6,14$   $p = 0,01$ ).

Чутливість до протитуберкульозних препаратів першого ряду (ізоніазид, рифампіцин, піразинамід, стрептоміцин, етамбутол) було визначено бактеріологічним методом абсолютних концентрацій в ізолятах, отриманих від 108 (98,2%) хворих. Суттєвою виявилась одночасна мультирезистентність та первинна резистентність до всіх препаратів першого ряду в штаммах Beijing (10,4%) у порівнянні з 5,8% серед хворих, інфікованих МБТ інших генетичних родин.

Таблиця 1

Частота інфікування *M.tuberculosis* родини Beijing в різних соціально-демографічних групах (СДГ) хворих

Соціально-демографічна група хворих	Кількість хворих, від яких отримані ізоляти родини Beijing (абс.число/%)	Соціально-демографічна група хворих	Кількість хворих, від яких отримані ізоляти родини Beijing (абс.число/%)	Відношення шансів (95% ДІ)
Чоловіки n=90	28/31,0%	Жінки n=20	5/25,0%	1,24 (0,55 – 2,82)
Особи, що перебували в місцях позбавлення волі n=27	9/33,3%	Особи, що не перебували в місцях позбавлення волі n=83	24/28,6%	1,29 (0,78 – 3,01)
Мешканці м.Одеси n=8	5/62,5%	Мешканці Одеської області n=102	28/27,4%	2,23* (1,20 – 4,16)
Контактні з хворими на туберкульоз n=47	14/29,8%	Відсутність контакту з хворими на туберкульоз n=63	11/17,5%	1,71 (0,85 – 3,41)
Наркозалежні особи n=16	9/56,3%	Особи які не вживають наркотики n=94	24/32%	1,9* (1,04 – 3,41)
1	2	3	4	5
Особи, що зловживають алкоголем n=27	5/18,5%	Особи, які зловживають алкоголем n=73	28/38,5%	2,07 (0,89 – 4,81)
Особи, що курять n=82	26/31,7%	Особи, що не курять n=28	7/25%	1,27 (0,62 – 2,59)

Примітка:\* - результати є статистично достовірними

Як критерії ефективності лікування туберкульозу на стаціонарному етапі (проміжна оцінка результатів лікування у разі незавершеного основного



курсу хіміотерапії) згідно стандартам діагностики та лікування туберкульозу враховувались:

- 1) стійке припинення бактеріовиділення, підтвержене мікроскопічним та культуральним дослідженням;
- 2) загоєння каверн в легенях та розсмоктування (або ущільнення) інфільтрації та вогнищ.

Проміжна оцінка ефективності лікування проводилась після завершення стаціонарного лікування (у разі незавершеного основного курсу хіміотерапії) лише у хворих на вперше діагностований туберкульоз (ВДТБ) ( $n = 87$ ), в яких інтенсивна фаза протитуберкульозного лікування тривала не менше ніж 2 місяці відповідно стандартному режиму хіміотерапії (табл. 2). Віддалені результати лікування аналізувались через два роки після встановлення діагнозу туберкульозу.

На етапі стаціонарного лікування покращання (повне зникнення клінічних проявів хвороби з припиненням бактеріовиділення та позитивною рентгенологічною динамікою, зникнення клінічних проявів хвороби з припиненням бактеріовиділення при недостатній рентгенологічній динаміці, зменшення клінічних проявів хвороби зі зменшенням масивності бактеріовиділення з частковим розсмоктуванням інфільтративних змін та частковою регресією каверн) у хворих, інфікованих збудником родини Beijing спостерігалось в 48% у порівнянні з 70,3% серед хворих, інфікованих збудниками інших генетичних родин ( $\chi^2 = 3,73$   $p = 0,05$ ). Померло від туберкульозу на етапі стаціонарного лікування 21,7% хворих, від яких отримані ізоляти Beijing та лише 1 хворий (1,6%), від якого отримали ізолят іншої генетичної групи.

На момент виписки у хворих, які виділяли *M.tuberculosis* генетичної родини Beijing за даними бактеріоскопії бактеріовиділення зберігалось частіше, ніж у хворих, які виділяли інші генетичні штами збудника (26,1% проти 51,6%,  $p < 0,05$ ). Тривалість бактеріовиділення більш, ніж 7 місяців спостерігалось у 13% хворих, що виділяли збудника з генетичної родини Beijing, у порівнянні з

1,6 % хворих, інфікованих збудниками інших генетичних родин.

Таблиця 2

Результати лікування хворих на ВДТБ легень, інфікованих збудниками  
*M.tuberculosis* родини Beijing

Результати лікування	Beijing (n = 23)	Інший генотип (n = 64)	Відношення шансів 95% ДІ
Проміжні результати лікування			
Вилікування	-	1 (1,6%)	
Покращання	11 (48%)	45 (70,3%)	1,4 (0,93-2,32)
Стан без змін	5 (21,7%)	9 (14,1%)	1,5 (0,58-4,14)
Померло	5 (21,7%)*	1 (1,6%)	13,9(1,71-12,8)
Перервали лікування (до 2міс)	2 (8,6%)	8 (12,4%)	
Віддалені результати			
Вилікування	6 (26,1%)	20 (31,3%)	1,1 (0,38-3,12)
Незавершене лікування	4 (17,4%)	9 (14,0%)	1,2 (0,58-3,14)
Хронічний туберкульоз (ХТБ)	3 (13,0%)	13 (20,4%)	1,2 (0,38-5,46)
Померло від туберкульозу	7 (30,5%)*	8 (12,5%)	7,9 (1,71-13,8)
Вибув/переведений	3 (13,0%)	9 (14%)	1,0 (0,24-2,14)

Примітка: \* - результати є статистично достовірними

Аналіз віддалених результатів також продемонстрував меншу летальність серед хворих, інфікованих збудниками, що не належать до родини Beijing. Таким чином, смерть від туберкульозу спостерігалась достовірно частіше серед хворих, від яких були отримані ізоляти родини Beijing, що дозволяє віднести інфікування цим штамом до одного з факторів несприятливого перебігу захворювання (OR 3,74 CI 1,12 – 12, 52), а визначення належності ізоляту *M.tuberculosis* до родини Beijing є доцільним для прогнозування можливості несприятливого перебігу захворювання.



## 2. МЕТОДИКА ВИДІЛЕННЯ ДНК ЗБУДНИКА ТУБЕРКУЛЬОЗУ

### 2.1 УСТАТКУВАННЯ І МАТЕРІАЛИ НЕОБХІДНІ ДЛЯ ВИДІЛЕННЯ ДНК:

1. Культури мікобактерій, що підлягають дослідженню
2. Вода для ін'єкцій
3. Хлороформ
4. Мікропробірки типу «Еппендорф» на 1,5 мл (їх кількості у 2 рази більша, ніж кількість досліджуваних культур);
5. Мікротермостат
6. Вортекс
7. Холодильник на 2-8°C з морозильною камерою
8. Мікроцентрифуга під пробірки «Еппендорф»
9. Петлі бактеріологічні
10. Наконечники з аерозольним бар'єром 200-1000 мкл
11. Штативи для мікропробірок типу «Еппендорф»
12. Одноразові гумові рукавички у достатній кількості
13. Маркер для підписування
14. Ємкість з дезінфікувальним розчином (5% розчин хлораміну)

### 2.2 ВИДІЛЕННЯ ДНК ЗБУДНИКА ТУБЕРКУЛЬОЗУ

Дослідження виконують обов'язково тільки в одноразових гумових рукавичках з використанням одноразових пластикових наконечників з аерозольним бар'єром, які замінюють після кожної операції.

Використаний одноразовий пластиковий посуд (пробірки, наконечники) скидають у спеціальну ємкість, що містить дезінфікувальний розчин (5% хлорамін).

Послідовність виділення ДНК наступна:

1. Розлити в мікропробірки по 200 мкл води. Петлею перенести колонію мікобактерій із середовища у мікропробірку, суспендувати вміст.
2. Додати в кожен мікропробірку 200 мкл хлороформу, суспендувати на вортексі протягом 30 с.

3. Помістити мікропробірки в мікротермостат та інкубувати при температурі  $80^{\circ}\text{C}$  протягом 20 хв
4. негайно після цього помістити мікропробірки в морозильну камеру при температурі  $-20^{\circ}\text{C}$  на 5 хвилини
5. Витягти з морозильника, центрифугувати при 10000 об/хв протягом 5 хв. Після цього піпеткою перенести супернатант до чистих заздалегідь промаркованих мікропробірок.

### 3. МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ПОЛІМЕРАЗНОЇ ЛАНЦЮГОВОЇ РЕАКЦІЇ

#### 3.1 УСТАТКУВАННЯ І МАТЕРІАЛИ, ЯКІ НЕОБХІДНІ ДЛЯ ВИКОНАННЯ

##### ПЛР:

1. Зразок ДНК, що досліджується
2. Мікропробірки типу «Еппендорф» на 0,5 мл
3. Вортекс
4. Ампліфікатор
5. Холодильник на  $2-8^{\circ}\text{C}$  з морозильною камерою (температура  $-20^{\circ}\text{C}$ )
6. Центрифуга під пробірки «Еппендорф»
7. Транслюмінатор з у/ф світлом
8. Пристрій для фіксування результатів електрофорезу (наприклад, відео-система «DNA-Analyzer»)
9. Персональний комп'ютер
10. Блок живлення для проведення електрофорезу
11. Кювета для проведення горизонтального електрофорезу в агарозовому гелі з набором гребінців
12. Дозатори автоматичні
13. Наконечники з аерозольним бар'єром 1-10 мкл, 10-200 мкл та 200-1000 мкл
14. Штативи для мікропробірок типу «Еппендорф»
15. Одноразові гумові рукавички у достатній кількості



16. Маркер

17. Праймери до регіону A1 *dnaA-dnaD* ділянки *M.tuberculosis*

18. ПЛР суміш № 2-blue

19. Суміш деоксинуклеозид трифосфатів

20. Вода особливої чистоти для ПЛР

21. Масло для ПЛР

22. Агароза для приготування 1,5% агарозного геля

23. TBE-буфер

24. 1% бромистий етидид

25. Ємкість з дезінфікуючим розчином (5% розчин хлораміну)

### 3.2 ПРОЦЕДУРА ВИКОНАННЯ ПЛР

Для проведення ПЛР реакції були використані праймери до регіону A1 *dnaA-dnaD* ділянки ( регіон Af - прямий 5' CGCATCCGTCAGCGCTCCAA та Ag - зворотний 5'GCCAACTCTTGTCGTAGCCGC)

Суміш для ПЛР містить на кожний досліджуваний зразок:

1. ПЛР- суміш № 2 -blue – 10 мкл;
2. прямий та зворотній праймери – по 30 пкмоль кожного;
3. суміш деоксинуклеозид трифосфатів – 2,5 мкл;
4. води особливої чистоти для ПЛР - 3,75 мкл

Суміш готується з розрахунку на кількість досліджуваних зразків плюс один (негативний контроль), добре піпетується чи перемішується на вортексі та розноситься по 17,5 мкл у заздалегідь промаркировані мікропробірки.

У кожную пробірку (крім негативного контролю) додається 2,5 мкл досліджуваної ДНК. Таким чином, сумарний об'єм суміші складає 20 мкл на кожную пробірку. В мікропробірку з негативним контролем додається 2,5 мкл води для ПЛР. У кожную пробірку додається 25-40 мкл стерильного мінерального масла для ПЛР.

ПЛР проводиться за наступним температурним режимом: 4 хв – 94 °С; 30 циклів - 30 секунд 94 °С, 30 секунд – 60 °С та 2 хв при 72 °С; 7 хв – 72 °С

Продукт ампліфікації аналізується шляхом електрофорезу в 1,5% агарозному гелі.

Для приготування гелю 1,5 г агарози розчинити в 20 мл трисборатного (ТБЕ) буферу та 80 мл дистильованої води, кип'ятити до повного розчинення, додати 20 мкл бромістого етидію та залити у зібрану камеру для електрофорезу. В гель додається негативний контроль, досліджуванні зразки та маркер молекулярної маси (суміш ДНК фрагментів відомого розміру від 2000 до 100 п.н.). Електрофорез проводиться протягом 30-40 хвилин при напрузі 200-220 вольт та силі струму 1,5А.

Наявність фрагменту ДНК оцінюється за наявністю світіння при ультрафіолетовому промінні, фіксується за допомогою відеосистеми для фіксування результатів електрофорезу та зберігається у базі даних комп'ютера.

За наявності інсерції IS6110 у міжгенній *dnaA-dnaN* ділянці розмір ампліфікованого продукту складає приблизно 2000 пар нуклеотидів, що вказує на належність збудника до родини Beijing.

За відсутності інсерції розмір ампліфікованого фрагменту складає 537 пар нуклеотидів. Розмір фрагменту оцінюють, порівнюючи з маркером молекулярної маси. Відсутність світіння на відповідній доріжці свідчить про відсутність ДНК або пригнічення ампліфікації у відповідному зразку.

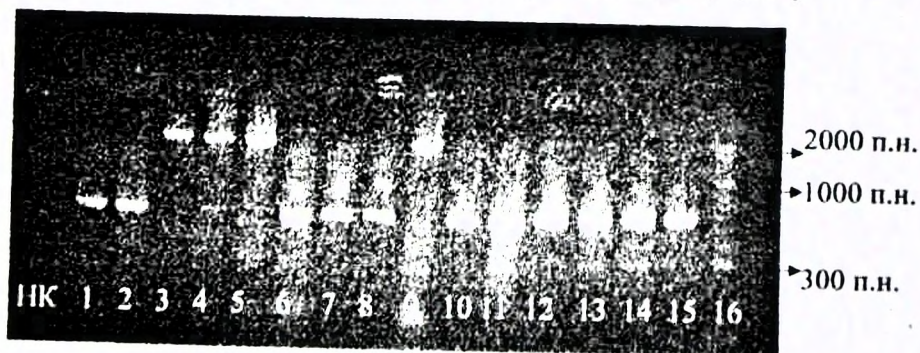


Рис. 1. Електрофореграма зразків ДНК *M.tuberculosis*. На 3,4,5 та 9 доріжках ДНК ізолятів належать до родини Beijing. НК – негативний контроль. 16 доріжка – маркер молекулярної ваги. Стрілками вказані розміри фрагментів 2000, 1000 та 300 пар нуклеотидів



На рисунку 1 наведено електрофореграму зразків ДНК *M.tuberculosis*, що дозволяє виявити належність збудника до штамів родини Beijing. На 3,4,5 та 9 доріжках розмір ампліфікованого фрагменту – 2000 п.н (Beijing). На інших доріжках розмір ампліфікованого фрагменту біля 500 п.н., що вказує на належність збудника до іншої родини. Остання доріжка – молекулярні сходи (Яскравішими є смуги, що відповідають розмірам ДНК фрагментів 2000, 1000 та 300 п.н.)

Методика визначення належності збудника до штамів родини Beijing, викладений в методичних рекомендаціях, характеризується простотою, доступністю виконання. Після отримання культури мікобактерій (3 — 4 тижні) результати дослідження ДНК можливо отримати протягом 5-6 годин, що дозволяє своєчасно визначити групу хворих з підвищеною ймовірністю несприятливого перебігу захворювання. Створення комп'ютерної бази даних на підставі результатів дослідження є важливим фактором вивчення епідеміології високо вірулентних штамів (Beijing) з підвищеною медикаментозною резистентністю з метою удосконалення контролю епідемічної ситуації в Україні.

## ВИСНОВОК

1. Встановлення належності виявленої у хворого *M.tuberculosis* до штаму Beijing є підставою для віднесення такого хворого до групи з прогнозовано тяжким перебігом туберкульозу
2. Належність туберкульозної палички до родини Beijing звертає увагу фтизіатрів на мультирезистентність до препаратів першого ряду
3. Інфікованість хворих *M.tuberculosis* штаму Beijing потребує індивідуального підходу як до їх ведення, так і призначення індивідуальних схем лікування.
4. Наведена методика визначення належності збудника туберкульозу до родини Beijing є доступною і дає можливості отримати кінцевий результат через 5-6 годин після отримання біологічного матеріалу.



## ПЕРЕЛІК РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. The W-Beijing lineage of *Mycobacterium tuberculosis* overproduces triglycerids and has the DosR dormancy regulon constitutively upregulated/M.B.Reed, S.Gagneux, K.Deriemer [et al.]/*J.Bacteriol.* – 2007. – V.189(№7) - P. 2583 – 2589
2. Влияние лекарственной устойчивости на фитнес микобактерий туберкулеза генотипа W-Beijing/Тунгусова О.С., Марьяндышев А.О., Каугант Д.А. [и др.]/Проблемы туберк. и болезней легких – 2005.- № 10. – С. 46 – 50
3. Nicol MP. The clinical consequences of strain diversity in *Mycobacterium tuberculosis*/ Nicol MP, Wilkinson RJ//*Trans R Soc Trop Med Hyg* – 2008.- V. 102 (№10). - P. 955 – 965
4. Роль комплексного генетического прогноза в лечении и профилактике туберкулеза органов дыхания у подростков/Павлова М.В., Скворцова Л.А., Кондакова М.Н. [и др.]/Пробл. туберк. и бол. легких – 2005.- № 9. – С. 30 – 33
5. Genomic deletions classify the Beijing/W strains as a distinct genetic lineage of *Mycobacterium tuberculosis*/Tsolaki A., Gagneux S., Pym A. [et al.]/ *J.Clin. Microbiol.* - 2005.-V.43.-P.3185-3191
6. Чередник Ю.А. Молекулярно-генетическое типирование клинических изолятов *Mycobacterium tuberculosis* в Украине/Чередник Ю.А., Аноприенко О.В., Фещенко Ю.И.// *Укр. пульмон. журнал.* – 2005. - №4. – С. 66-68.
7. Стандарти діагностики і лікування туберкульозу: методичні рекомендації/ уклад.: Ю.І. Фещенко, Л.В. Кучугура-Кучеренко, Петренко В.М. [та ін]/- К., 2004. - 64 с.